

# 离子化策略实现马来酸酐水溶性光敏探针的制备及其在高效抗菌中的应用

李 银<sup>1,2#</sup>, 汤睿霖<sup>2#</sup>, 瞿 超<sup>1</sup>, 程亮慧<sup>1</sup>, 胡玉玺<sup>1</sup>, 吴钰祥<sup>1</sup>, 王志明<sup>2</sup>

(1. 江汉大学智能体育与主动健康研究院, 武汉 430056;

2. 华南理工大学发光材料与器件全国重点实验室, AIE 高等研究院, 广州 510640)

**摘要** 3,4-二芳基马来酸酐系列衍生物因具有与伯胺类物质的高反应活性而被应用于生物荧光成像和光敏治疗, 但水溶性的缺陷限制了其进一步的生物应用. 本文以二乙基苯胺为原料, 通过与 1,2-方酸酐氯的 Friedel-Crafts 酰基化反应、光催化扩环及碘甲烷季铵化反应, 合成了一种阳离子型荧光探针 2NM-1. 该探针表现出显著的聚集诱导发光特性, 在水相中具有良好的溶解性; 可通过静电相互作用与细胞膜有效结合, 实现了对微生物的特异性荧光识别与成像, 且对革兰氏阳性菌和真菌表现出优异的光动力抗菌活性, 展现出生物应用潜力.

**关键词** 聚集诱导发光; 3,4-二芳基修饰马来酸酐; 光动力抗菌

中图分类号 O621

文献标志码 A

doi: 10.7503/cjcu20250413

## Ionization Strategy for the Preparation of a Water-soluble Maleic Anhydride-based Photosensitive Probe and Its Application in High-efficiency Antibacterial Therapy

LI Yin<sup>1,2#</sup>, TANG Ruilin<sup>2#</sup>, QU Chao<sup>1</sup>, CHENG Lianghai<sup>1</sup>, HU Yuxi<sup>1</sup>,  
WU Yuxiang<sup>1\*</sup>, WANG Zhiming<sup>2\*</sup>

(1. Institute of Intelligent Sport and Proactive Health, Jianghan University, Wuhan 430056, China;

2. AIE Institute, State Key Laboratory of Luminescent Materials and Devices,  
South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

**Abstract** The 3,4-diarylmaleic anhydride series derivatives have been applied in biological fluorescence imaging and phototherapy due to their high reactivity with primary amine substances, but their water solubility limitations limit their further biological applications. This paper synthesized a cationic fluorescent probe 2NM-1 from diethyl-aniline via sequential Friedel-Crafts acylation with 1,2-squaroyl chloride, photocatalytic ring expansion, and quaternization with methyl iodide. The probe exhibits pronounced aggregation-induced emission property and good water solubility, and effectively binds to cell membrane through electrostatic interactions, thereby achieving specific fluorescent recognition and imaging of microbes. 2NM-1 displays potent photodynamic antibacterial activity against Gram-positive bacteria and fungi, demonstrating potential for biomedical applications.

收稿日期: 2025-12-31. 网络首发日期: 2026-02-02.

联系人简介: 王志明, 男, 博士, 研究员, 主要从事有机功能材料方面的研究. E-mail: wangzhiming@scut.edu.cn

吴钰祥, 男, 博士, 教授, 主要从事主动健康与可穿戴器件方面的研究. E-mail: yxwu@jhun.edu.cn

基金项目: 国家自然科学基金(批准号: 52473173)、广东省基础与应用基础研究基金(批准号: 2023B151504003)、湖北省自然科学基金(批准号: 2025AFD638)和江汉大学研究基金(批准号: 2024JCYJ16)资助.

Supported by the National Natural Science Foundation of China(No.52473173), the Basic and Applied Basic Research Foundation of Guangdong Province, China(No.2023B151504003), the Natural Science Foundation of Hubei Province, China(No.2025AFD638) and the Research Fund of Jianghan University, China(No.2024JCYJ16).

# 共同第一作者.

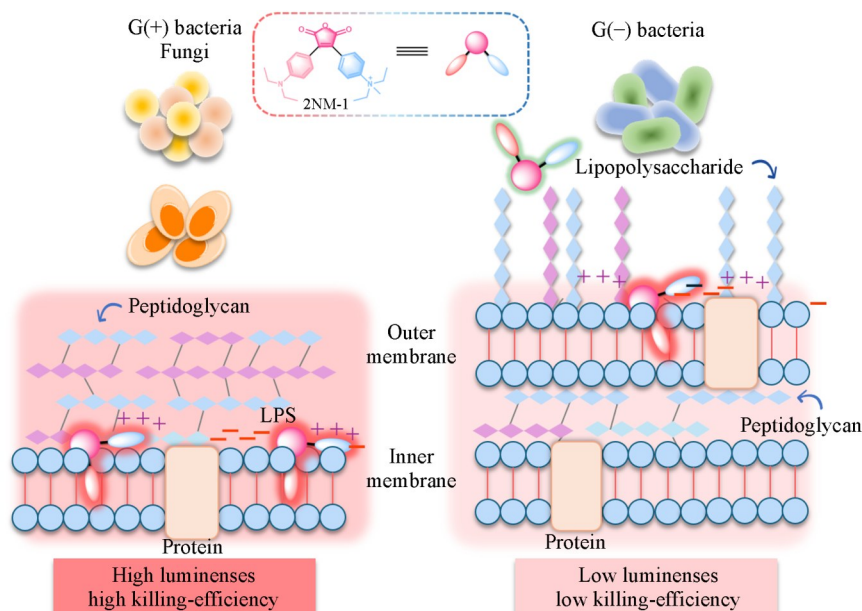
**Keywords** Aggregation-induced emission; 3,4-Diaryl modified maleic anhydride; Photodynamic antibacterial

微生物感染是威胁人类健康的主要因素之一,尤其是抗生素耐药性病原菌的广泛出现已逐渐成为长期感染的起因<sup>[1-4]</sup>.因此,开发具有新型作用机制的高效抗菌策略,实现微生物的快速识别与高效杀伤是生物医学领域的重要研究方向.光动力抗菌疗法是一种非侵入性、时空可控的治疗方式,在光照下光敏剂产生活性氧(Reactive oxygen species, ROS),实现对病原微生物的选择性杀伤,具有不易诱导耐药性、对宿主组织损伤小等优势,展现出广阔的应用前景<sup>[5-7]</sup>.

在光动力抗菌体系中,光敏剂的性能直接影响其抗菌效率与生物安全性<sup>[8-10]</sup>.理想的抗菌光敏剂应具备良好的光稳定性、高效 ROS 生成能力、优异的水溶性以及选择性靶向微生物的能力<sup>[11-13]</sup>.近年来,聚集诱导发光(Aggregation-induced emission, AIE)材料因其在聚集状态下荧光增强的特性,克服了传统荧光分子在浓溶液中因聚集导致荧光猝灭(Aggregation-caused quenching, ACQ)的缺陷,在生物成像与光动力治疗中备受关注<sup>[14-16]</sup>.尤其值得注意的是,通过合理的分子设计,将 AIE 特性与阳离子化策略结合,可显著增强光敏剂与带负电荷的细菌细胞膜之间的静电相互作用,从而提升其靶向性与抗菌效果<sup>[17-20]</sup>.然而,由于细胞膜表面亲水的磷酸基团存在,高亲水性的阳离子分子仅附着于细胞膜表面.因此,在阳离子分子中引入适当的疏水基团,提升其跨膜渗透能力至关重要<sup>[21,22]</sup>.鉴于细菌表面电位通常比哺乳动物细胞更负,因此平衡阳离子分子的电荷与疏水性是实现细菌选择性靶向的关键<sup>[23,24]</sup>.然而,目前多数阳离子型 AIE 光敏剂仍存在合成困难、分子结构复杂、光谱范围局限及跨膜渗透能力不足等问题.因此,设计并合成兼具适度疏水性、长波长吸收/发射以及高效 ROS 生成能力的阳离子型 AIE 光敏剂,是实现高效、选择性抗菌的关键.

前期研究<sup>[25-27]</sup>发现,在光照条件下,1,2-二芳基方酸衍生物能高产率地转化为3,4-二芳基修饰的马来酸酐衍生物,该反应简单高效、结构性能可调节度高,通过调控外围给电子基团可实现光物理性质与光敏性能之间的精细可控调节.这类马来酸酐衍生物具有显著的分子内电荷转移特性和可修饰性,是一类颇具潜力的 AIE 发光骨架.然而,目前其离子型衍生物的研究尚处于起步阶段,尤其是在抗菌领域的应用潜力尚未充分挖掘.

基于以上研究背景,本文设计合成了一种阳离子型3,4-二芳基修饰的马来酸酐化合物(2NM-1).引入富电子单元二乙基苯胺,通过Friedel-Crafts酰基化反应制得前体2N-SQ;再经光催化扩环转化为吸电子能力更强的马来酸酐五元环结构(2NM);最后,利用碘甲烷对氮原子进行季铵化,引入正电荷得到阳离子型探针2NM-1(Scheme 1).该探针的合成路线简洁、结构简单,具有显著的 AIE 特性和高效



**Scheme 1** Schematic illustration of antibacterial mechanism of 2NM-1

的活性氧产生能力。同时,其在水相中溶解性良好,对微生物表现出优异的光动力抗菌活性,在生物医学领域展现出潜在的应用价值。

## 1 实验部分

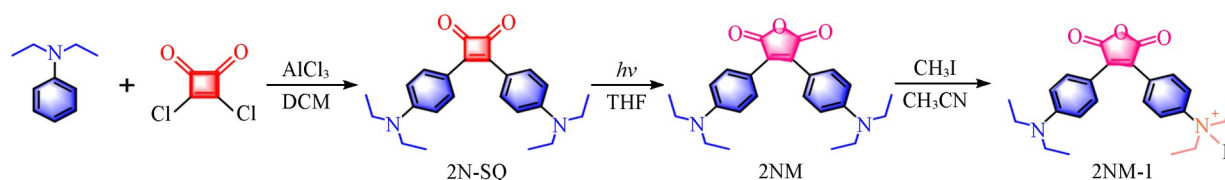
### 1.1 试剂与仪器

*N,N*-二乙基苯胺(纯度99.0%)、氯化亚砷(纯度99.0%)和9,10-蒽二基-二(亚甲基)二丙二酸(纯度95%),上海麦克林生化科技股份有限公司;超干*N,N*-二甲基甲酰胺(纯度99.8%),上海安耐吉化学试剂有限公司;无水三氯化铝(纯度99.0%),梯希爱(上海)化成工业发展有限公司;3,4-二羟基-3-环丁烯-1,2-二酮(纯度98.0%)、2',7'-二氯荧光素二乙酸酯(纯度98.0%)和二氢罗丹明123(纯度95%),上海阿拉丁生化科技股份有限公司;无水硫酸镁和氯化钠(纯度99.0%),上海润捷化学试剂有限公司;苝苯基荧光素(纯度98%),美国赛默飞世尔科技有限公司。

Bruker 400 MHz型和Bruker 500 MHz型核磁共振波谱仪(NMR)和MALDITOF/TOF型基质辅助激光解析电离飞行时间质谱仪(MALDI-TOF-MS),瑞士Bruker公司;UV-2600型紫外-可见分光光度计(UV-Vis),日本Shimadzu公司;Fluoromax-4型荧光光谱仪(PL),日本Horiba公司;Nano-S90型动态光散射仪,英国Malvern公司;场发射扫描电子显微镜(SEM),日本日立公司;LSM 710型激光共聚焦显微镜,德国Zeiss公司;Infinite M200PRO型多功能微孔板检测仪,瑞士Tecan公司。

### 1.2 实验过程

化合物2N-SQ, 2NM和2NM-1的合成路线见Scheme 2。通过层析柱色谱对目标产物进行了分离和提纯,并经<sup>1</sup>H NMR, <sup>13</sup>C NMR, MALDI-TOF MS及单晶X射线衍射分析进行了结构确证,相关谱图见图S1~图S9(见本文支持信息)。



Scheme 2 Synthetic route of 2NM-1

1.2.1 化合物2N-SQ的合成 将2 g(17.5 mmol) 3,4-二羟基-3-环丁烯-1,2-二酮加入100 mL双口反应瓶中,用饱和碳酸氢钠溶液作为尾气处理装置。将35 mL超干氯化亚砷注入反应瓶中,加热至60 °C,将0.15 mL超干*N,N*-二甲基甲酰胺注入反应瓶中,回流反应6 h。反应结束后,冷却至室温,用吸管将反应液吸入干燥的旋转瓶中,加入足量二氯甲烷旋转蒸发除去多余的氯化亚砷和*N,N*-二甲基甲酰胺,得到方酸酰氯。将4.6 g(35 mmol)无水三氯化铝加入250 mL双口反应瓶中,将方酸酰氯用20 mL二氯甲烷稀释后注入反应瓶中,再注入80 mL二氯甲烷,加热至58 °C,用注射器滴加5.33 mL(35 mmol) *N,N*-二乙基苯胺并回流12 h。反应结束后,将反应液倒入盛有冷水的1000 mL分液漏斗中,用水-二氯甲烷进行萃取3次,所得有机相用无水硫酸镁干燥,经旋转蒸发除去有机溶剂,通过柱层分析法分离提纯得到橙黄色粉末状2N-SQ(3.2 g),产率60%。<sup>1</sup>H NMR(400 MHz, CDCl<sub>3</sub>), δ: 8.09(d, *J*=8.9 Hz, 1H), 6.72(d, *J*=8.6 Hz, 1H), 3.46(d, *J*=7.1 Hz, 2H), 1.24(s, 2H); <sup>13</sup>C NMR(101 MHz, CDCl<sub>3</sub>), δ: 196.77, 181.17, 150.84, 131.43, 130.78, 116.33, 111.10, 44.79, 12.72; HRMS(MALDI-TOF), *m/z*: 376.2151 [M+Na]<sup>+</sup>, 计算值399.2056。

1.2.2 化合物2NM的合成 向250 mL抽滤瓶中加入1 g(2.66 mmol)2N-SQ,随后加入100 mL四氢呋喃,在400~410 nm光催化下反应6 h,通过停止光照终止反应,待冷却至室温后,旋转蒸发除去溶剂,随后采用柱层分析法分离提纯,得到紫黑色粉末状2NM(626 mg),产率为60%。<sup>1</sup>H NMR(500 MHz, CDCl<sub>3</sub>), δ: 7.86(d, *J*=8.8 Hz, 1H), 7.75(d, *J*=8.9 Hz, 1H), 7.54(d, *J*=9.2 Hz, 1H), 6.59(d, *J*=9.2 Hz, 1H), 3.72(s, 2H), 3.64(s, 1H), 3.43(q, *J*=7.1 Hz, 2H), 1.21(t, *J*=7.1 Hz,

7H);  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$ : 166.75, 149.17, 132.53, 131.40, 115.11, 111.03, 44.54, 12.76; HRMS(MALDI-TOF),  $m/z$ : 392.2100  $[\text{M}]^+$ , 计算值 393.2182.

1.2.3 化合物 2NM-1 的合成 向 100 mL 圆底烧瓶中加入 100 mg (0.25 mmol) 2NM, 再加入 20 mL 乙腈, 加热至 50  $^{\circ}\text{C}$ , 加入 0.5~1.0 mL 碘甲烷, 回流反应 48 h. 反应结束后, 旋转蒸发除去溶剂. 所得固体用 5 mL 乙腈溶解, 滴入通有氮气的乙醚中析出产物, 抽滤得到目标产物 2NM-1 (深紫色固体 88 mg), 产率 65.8%.  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$ : 7.88 (d,  $J=9.0$  Hz, 1H), 7.79 (d,  $J=9.1$  Hz, 1H), 7.55 (d,  $J=9.2$  Hz, 1H), 6.62 (d,  $J=8.8$  Hz, 1H), 3.73 (d,  $J=13.3$  Hz, 2H), 3.44 (d,  $J=7.2$  Hz, 2H), 1.33~1.10 (m, 7H);  $^{13}\text{C}$  NMR (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$ : 165.63, 141.61, 140.31, 132.66, 132.21, 122.63, 111.93, 65.21, 55.05, 46.90, 45.16, 12.96, 9.44; HRMS(MALDI-TOF),  $m/z$ : 407.2329  $[\text{M}]^+$ , 计算值 407.2344.

1.2.4 细菌培养及成像 取 100  $\mu\text{L}$  菌液接种于装有 5~10 mL 适配液体培养基的 50 mL 无菌离心管中, 置于 37  $^{\circ}\text{C}$  恒温摇床上, 以 170 r/min 的转速恒温培养 12 h, 直至澄清透明的液体培养基变为浑浊状态. 随后, 从中取 1 mL 加入 2 mL 离心管中, 通过高速离心移除旧培养基, 再用磷酸盐缓冲溶液 (PBS) 进行 3 次洗菌, 使最后一次离心后的上层清液无色透明, 然后将洗涤后的细菌用 PBS 缓冲液稀释至  $\text{OD}_{600}=1.0$  后备用. 特别地, 对于白色念珠菌, 制备  $\text{OD}_{600}=2.0$  的菌液备用. 进行成像实验时, 配制 5  $\mu\text{mol/L}$  的目标分子 PBS 溶液, 取预先制备的待测菌液以及目标分子 PBS 溶液各 500  $\mu\text{L}$  一并加入离心管中, 置于 170 r/min 转速、37  $^{\circ}\text{C}$  的恒温摇床上培养 30 min, 离心移除上层清液, 进行 3 次洗菌, 再加入 20  $\mu\text{L}$  PBS 缓冲液以重新获得细菌悬液. 在载玻片上滴加 2.5  $\mu\text{L}$  菌液后用盖玻片覆盖, 完成制样, 最后通过 CLSM 成像 (Channel 模式: 2NM-1,  $\lambda_{\text{ex}}=488$  nm,  $\lambda_{\text{em}}=600\sim 740$  nm).

1.2.5 共培养抗菌实验 将新制的  $\text{OD}_{600}=1.0$  的菌液稀释 1000 倍, 加入盛有不同浓度 2NM-1 的 PBS 溶液的 96 孔板中, 每孔液体总体积 100  $\mu\text{L}$ . 开始培养前, 使用多功能微孔板检测仪对 96 孔板振荡 60 s 后, 检测每孔在 600 nm 处的吸收值作为初始值 ( $C_0$ ). 将 96 孔板置于 37  $^{\circ}\text{C}$  恒温摇床中, 在 170 r/min 转速下培养 24 h. 培养结束后, 通过酶标仪对 96 孔板进行振荡, 检测每孔菌液在波长为 600 nm 处的吸收值 ( $C$ ), 通过计算实验组与空白对照组吸收值的比值  $[(C-C_0)/C_0]$  表征不同药物浓度对应的细菌存活率.

1.2.6 SEM 成像 配制 5  $\mu\text{mol/L}$  目标分子 PBS 溶液, 取待测菌液和 2NM-1 PBS 溶液各 500  $\mu\text{L}$  加入离心管中, 置于 37  $^{\circ}\text{C}$  恒温摇床中, 在 170 r/min 转速下培养 40 min, 离心移除上层清液, 重复 3 次. 用 500  $\mu\text{L}$  体积分数为 5% 的戊二醇 PBS 溶液与细菌在 4  $^{\circ}\text{C}$  环境下避光作用 12 h 进行固定. 固定后, 高速离心除去上层清液, 用 PBS 缓冲液进行 3 次洗菌. 随后, 使用不同体积分数 (10%, 20%, 40%, 60%, 80%, 90%, 95% 和 100%) 的乙醇溶液进行梯度脱水处理, 每个梯度作用 10 min. 最后, 取 5  $\mu\text{L}$  脱水后样品滴涂于洁净硅片 (5 mm  $\times$  5 mm) 上, 经过喷金处理后, 利用 SEM 观察其形貌.

1.2.7 细胞毒性评估 采用噻唑蓝 (MTT) 法对目标分子的光暗毒性进行了评估. 取适当完成计数的细胞悬液, 稀释成  $5\times 10^4$  个/mL 的细胞悬液, 以每孔 100  $\mu\text{L}$  悬液加入 96 孔板中, 使细胞密度为 5000 个/孔. 培养细胞至充分贴壁生长后, 移除旧培养基, 加入新制的含有不同浓度 2NM-1 的培养基溶液, 暗毒性实验组连续培养 24 h, 光毒性实验组在培养 12 h 后, 使用光照强度为 50  $\text{mW/cm}^2$  的白光照射 30 min 后继续培养 12 h. 培养结束后, 移除旧培养基, 用浓度为 0.5 mg/mL 的 MTT 培养基溶液继续培养 4 h. 移除含有 MTT 的旧培养基, 每孔加入 100  $\mu\text{L}$  DMSO 后, 在酶标仪中振荡 2 min 后, 测量每孔溶液在 570 nm 处的吸光度值, 随后依据公式  $\text{CV} = C/C_0 \times 100\%$  计算得到不同纳米粒子浓度下细胞的存活率 (CV) [其中,  $C$  表示实验组 (用含有不同浓度目标分子的培养基处理过) 的吸光度值,  $C_0$  表示对照组 (只用培养基培养) 的吸光度值].

## 2 结果与讨论

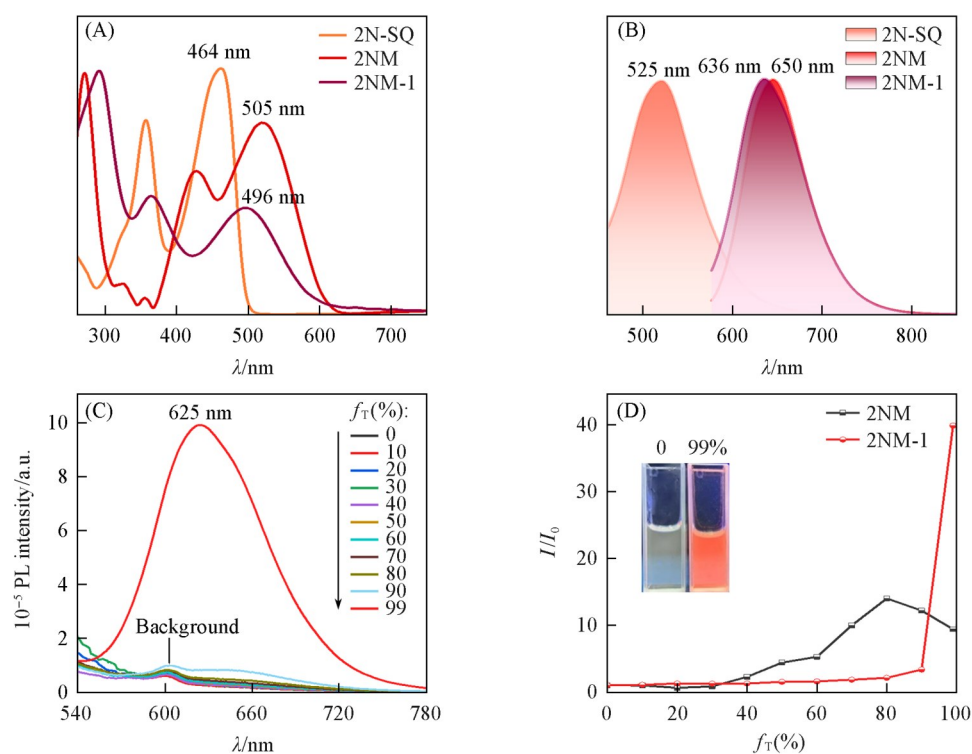
### 2.1 目标产物的制备

为了构建具有潜在水溶性的阳离子型 3,4-二芳基修饰的马来酸酐探针, 首先, 以方酸为电子受

体,经酰氯化后与强电子受体二乙基苯胺通过一步Friedel-Crafts酰基化反应,一步合成了具有强给-受体结构的前体2N-SQ;随后,通过光催化扩环反应制得二芳基取代的马来酸酐化合物2NM,其分子内电荷转移效应进一步增强;最后,利用碘甲烷对2NM进行季铵化,将其转化为水溶性好、抗菌活性增强的稳定阳离子型功能化合物2NM-1.该探针在PBS缓冲液中的最大溶解度为2.90 mg/mL.目标化合物的结构经核磁共振氢谱、碳谱及高分辨质谱确证.

## 2.2 光物理性能

首先,测试了分子在四氢呋喃溶液中的UV-Vis吸收光谱.如图1(A)所示,3个分子在短波长区和长波长区处均存在明显的吸收峰.短波长处的吸收归属于 $\pi-\pi^*$ 跃迁,而长波长处的吸收则来源于电荷转移态的跃迁.2N-SQ,2NM和2NM-1的短波长吸收峰分别位于356,428和364 nm处,长波长处吸收峰分别位于464,505和496 nm处.其中,2NM的吸收光谱红移最为显著,表明其具有最强的分子内电荷转移效应.在荧光光谱中,2NM的最大发射波长比2N-SQ红移了125 nm.值得注意的是,作为分子量仅为392.21的2NM,其吸收与发射光谱均覆盖红光及深红光区域.与2N-SQ相比,2NM和2NM-1的最大吸收峰和最大发射峰均显著红移,斯托克斯位移也大幅提高.阳离子化后的2NM-1的最大发射波长为636 nm,比2NM的650 nm发生轻微蓝移,可能是由于阳离子化将2NM-1转化为D-A-A构型,削弱了分子内电荷转移效应所致[图1(B)].



**Fig. 1** UV-Vis absorption spectra(A) and fluorescence spectra(B) of 2N-SQ, 2NM and 2NM-1 in THF, fluorescence spectra of 2NM-1 in toluene/DMSO mixtures with different toluene fractions( $f_T$ )(C) and the relative fluorescence intensity( $I/I_0$ ) of 2NM-1 in toluene/DMSO mixtures with different toluene fractions(D)

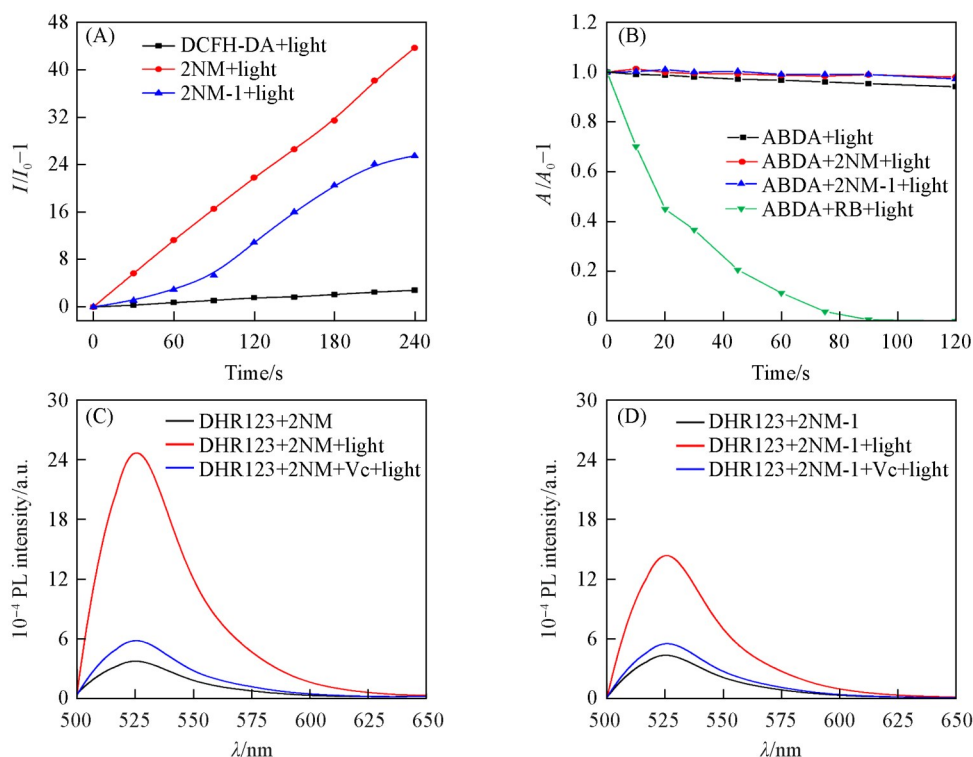
The illustration shows the fluorescence images of 2NM-1 in toluene/DMSO taken at  $f_T=0-99\%$  (volume fraction) (concentration: 10  $\mu\text{mol/L}$ ).

为了探究分子的聚集诱导发光性质,测试了2NM和2NM-1在不同比例的甲苯/DMSO混合溶剂中的荧光发射光谱.如图1(C)和(D)所示,在DMSO中,2NM-1基本不产生荧光.随着甲苯比例的增加,分子逐渐发生聚集,当甲苯含量达99%时,2NM-1的荧光强度比在DMSO中增强约40倍,表现出典型的AIE特性.此外,与在四氢呋喃中测得的最大发射波长相比,在甲苯中出现了11 nm的蓝移.这表明

2NM-1 具有强 D-A 结构, 在高极性的四氢呋喃和低极性的甲苯中表现出显著的溶剂化效应. 结合单晶数据分析结果(图 S10, 见本文支持信息), 2NM 分子中相邻平面中心之间的距离为 0.40343 nm, 大于 2N-SQ 的相应距离. 同时, 平面 A 与平面 B 之间并非完全平行, 二者存在约  $4.1^\circ$  的二面角, 导致平面 A 的五元环中心到平面 B 的垂直距离(0.3677 nm)与平面 B 的五元环中心到平面 A 的垂直距离(0.3597 nm)存在差异. 据此推测, 五元马来酸酐环的形成降低了分子的平面性, 有效抑制了固态下分子间的  $\pi$ - $\pi$  堆积, 从而减少了非辐射跃迁, 提高了发光效率, 实现了聚集诱导发光.

### 2.3 活性氧评估

通过活性氧检测实验评估了目标分子 2NM 和 2NM-1 生成活性氧的能力和种类. 首先, 采用 DCFH 探针检测了总的 ROS 生成能力. 如图 2(A) 所示, 在光照条件下, 加入 2NM 的 DCFH 荧光持续增强, 4 min 内实现 45 倍的提高, 表现出优异的 ROS 生成能力, 且明显高于水溶性探针 2NM-1 在纯 PBS 溶液中 25 倍的提高, 这可能是由于测试溶剂体系的差异, 2NM 在聚集态下表现出聚集诱导 ROS 增强, 而 2NM-1 在 PBS 溶液中为单分子状态, ROS 产生能力相对较弱. 随后, 对 ROS 生成种类进行了研究, 利用 HPF 探针指示 I 型活性氧物种中羟基自由基的生成, ABDA 探针指示 II 型活性氧单线态氧的生成. 如图 2(B) 和图 S11(见本文支持信息) 所示, 光照后含有 2NM 和 2NM-1 的 ABDA 探针的吸收值均无明显降低, HPF 探针荧光强度也无明显变化, 表明二者基本不产生单线态氧和羟基自由基. 进一步利用 DHR 123 探针和抗坏血酸钠(Vc)的组合, 探究了 2NM 和 2NM-1 超氧阴离子自由基的生成能力. 如图 2(C), (D) 和图 S12(见本文支持信息) 所示, 光照后含有 2NM 和 2NM-1 的 DHR 123 的荧光显著增强, 且 2NM 的增长(23 倍)明显高于 2NM-1(14 倍), 而加入自由基猝灭剂 Vc 后, DHR 123 的荧光则大幅下降并接近光照前的水平, 表明 2NM 和 2NM-1 在光照下产生的主要 ROS 物种为超氧阴离子自由基. 超氧阴离子自由基是一种低氧依赖性的 I 型活性氧物种, 与单线态氧相比, 其生成不需要高浓度氧气, 在细菌生物膜疗法中表现出优异的抗菌性能. 超氧阴离子自由基可直接破坏细菌体内的蛋白质和 DNA, 并干扰其能



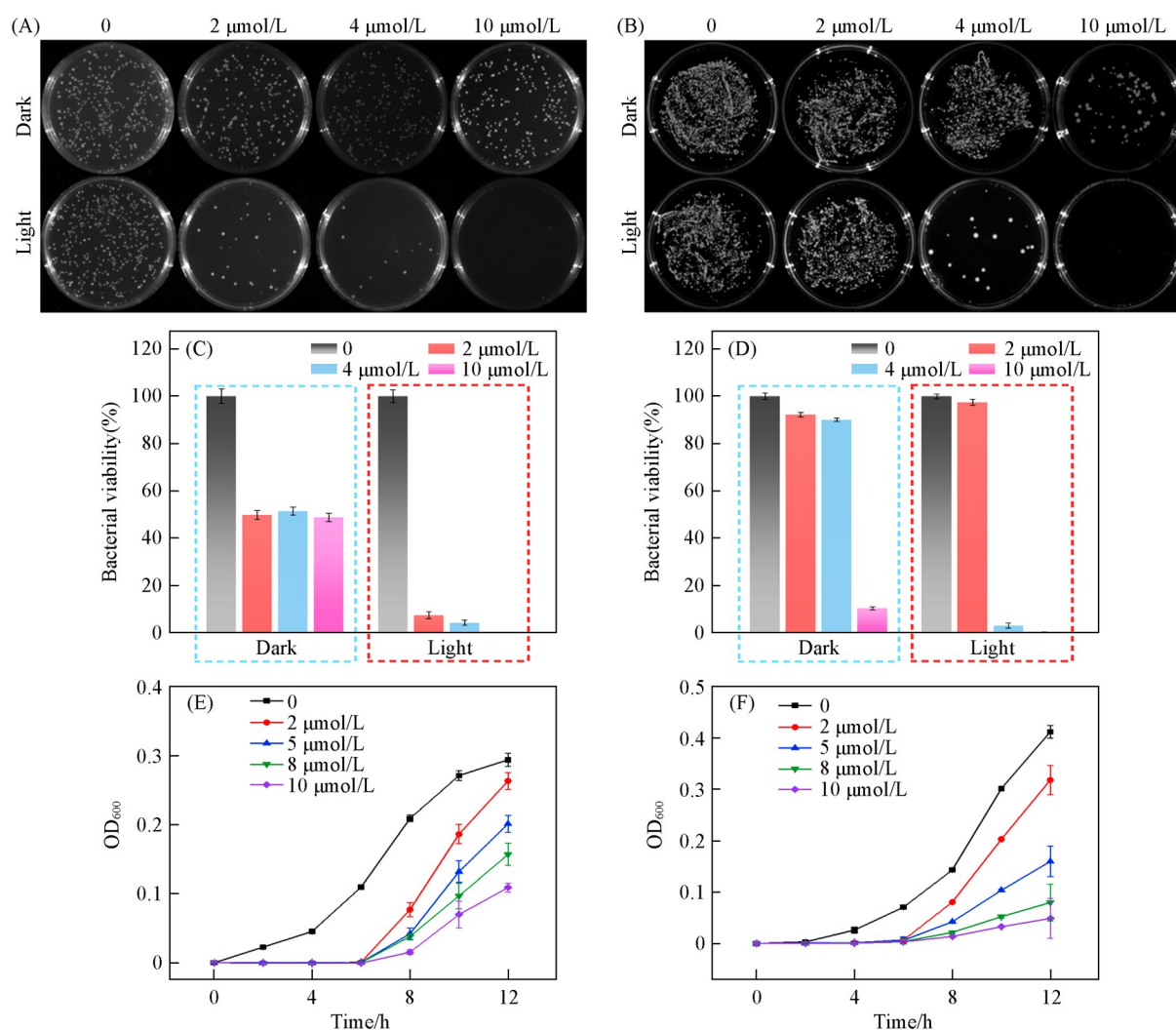
**Fig. 2** Plots of the relative PL intensity at 525 nm of DCFH(40  $\mu$ mol/L)(A) and the relative absorption intensity at 380 nm of ABDA(50  $\mu$ mol/L)(B) of 2NM and 2NM-1, fluorescence spectra of DHR 123 probe and 2NM(C) or 2NM-1(D)(10  $\mu$ mol/L) before and after adding Vc under illumination (40  $\text{mW}/\text{cm}^2$ ), 2NM in 1% DMSO, 2NM-1 in PBS solution

量代谢,使其无法正常存活.此外,与羟基自由基相比,超氧阴离子自由基具有优异的生物相容性<sup>[28,29]</sup>.

## 2.4 体外抗菌性能

鉴于2NM-1具有优异的聚集诱导发光性质、活性氧产生效率以及良好的水溶性,在微生物的荧光成像和光谱抗菌方面具有广阔的应用潜力.以金黄色葡萄球菌(*S. aureus*)、大肠杆菌(*E. coil*)和白色念珠菌(*C. albicans*)分别作为革兰氏阳性菌、革兰氏阴性菌及真菌的研究模型评估了2NM-1的体外抗菌性能.将2NM-1与微生物进行共孵育成像,结果如图S13(A)(见本文支持信息)所示,2NM-1对*S. aureus*, *E. coil*和*C. albicans*均能实现荧光成像,其中与白色念珠菌和金黄色葡萄球菌的结合效果明显优于大肠杆菌.同时,Zeta电位测试结果[图S13(B)]表明,加入2NM-1后,金黄色葡萄球菌细胞膜的负电位从-48 mV升高至-31.8 mV,证实带正电荷的2NM-1与带负电荷的微生物表面存在显著的静电相互作用.

进一步评估了2NM-1的抗菌效果.平板菌落计数实验结果显示,2NM-1对金黄色葡萄球菌和白色念珠菌具有优异的抗菌活性.如图3(A)和(B)所示,在黑暗条件下,2NM-1对金黄色葡萄球菌和白色



**Fig. 3** Photographs of *S. aureus*(A) and *C. albicans*(B) on LB agar plates treated with 2NM-1 with different concentrations at dark or light, quantized survival rates of *S. aureus*(C) and *C. albicans*(D) via colony counting on LB agar plates treated by 2NM-1 with different concentrations at dark or light, growth curves of *S. aureus*(E) and *C. albicans*(F) treated with 2NM-1 with different concentrations after irradiation

念珠菌表现出一定的抑菌活性,且2NM-1浓度达到10  $\mu\text{mol/L}$ 时对白色念珠菌的抑菌率达到90%;在光照下,其对金黄色葡萄球菌和白色念珠菌的杀灭效果随着浓度的升高显著增强.对其进行定量分析结果显示,在黑暗条件下,2NM-1对白色念珠菌的最小抑菌浓度(MIC)为10  $\mu\text{mol/L}$ ;在光照下,2NM-1对于金黄色葡萄球菌的MIC值降至2  $\mu\text{mol/L}$ ,对于白色念珠菌的MIC值为4  $\mu\text{mol/L}$ ,均表现出优异的光动力抗菌性能[图3(C)和(D)].而对于大肠杆菌,无论是避光条件还是光照下,2NM-1对其存活率影响甚微,其原因可能是大肠杆菌的外膜结构致密,分布有丰富的孔蛋白与结构蛋白等含氨基大分子.这些生物大分子可能与马来酸酐五元环发生特异性生物偶联,导致2NM-1主要附着于菌体外膜表面,而难以进一步穿透膜结构进入内部.这种空间位阻与结合模式的限制,阻碍了2NM-1与靶点的有效相互作用<sup>[25,26]</sup>,因此即便在光照条件下,也未观察到显著的光动力抗菌效果(图S14,见本文支持信息).此外,生长曲线表明[图3(E),(F)和图S15(见本文支持信息)],2NM-1的抑菌作用呈明显的浓度依赖性,且对白色念珠菌的抗菌活性较强.

为探究2NM-1对微生物的杀伤机制,通过SEM观察了经2NM-1处理前后微生物的形貌变化.如图4(A)所示,避光处理的金黄色葡萄球菌和白色念珠菌表面光滑,界面清晰分明.但经过光照处理后,金黄色葡萄球菌无法保持球状的外形,出现明显褶皱与凹陷,细胞膜出现融合,内容物流出[图4(B)];白色念珠菌的细胞膜不再光滑平整,出现大量褶皱,与相邻菌的细胞膜发生融合[图4(C)和(D)].据此推测,2NM-1主要通过破坏微生物细胞膜/细胞壁结构来发挥其光动力抗菌作用.

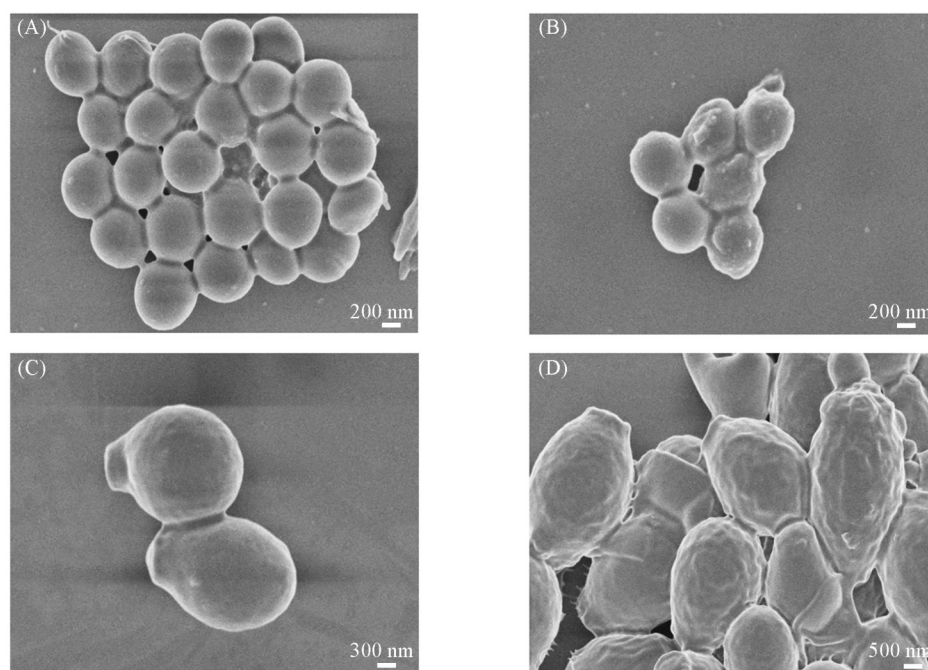


Fig. 4 SEM images of *S. aureus*(A, B) and *C. albicans*(C, D) co-cultured with 2NM-1 after treatment with dark(A, C) or light(B, D) for 20 min(40 mW/cm<sup>2</sup>)

## 2.5 生物相容性

通过体外荧光成像及细胞毒性实验评估了探针的生物相容性.以Hela细胞和4T1细胞作为研究模型,结果如图5(A)所示,2NM-1与Hela共孵育6 h后,细胞内才开始出现微弱荧光;即使孵育8 h后,仍有大量的2NM-1聚集于细胞膜外围,形成点状荧光,未充分进入细胞内部,表明细胞对2NM-1的摄取率较低.通过噻唑蓝(MTT)法评估了2NM-1的细胞毒性.如图5(B)和(C)所示,无论是避光还是光照下,即使在高浓度下,2NM-1对Hela细胞和4T1细胞均未表现出明显的细胞毒性.结合低细胞摄取特性,可认为2NM-1具有良好的生物相容性,适用于生物成像和抗菌应用.

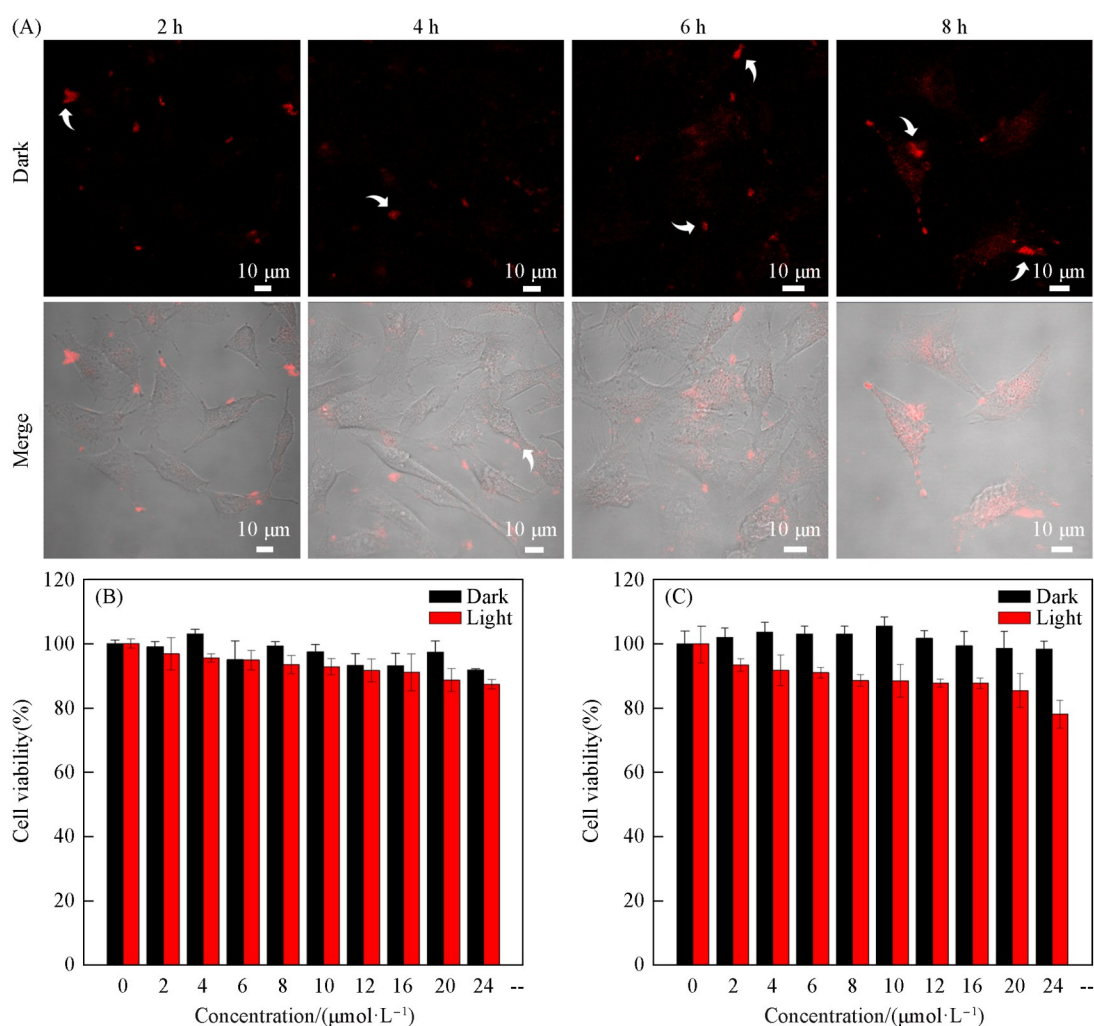


Fig. 5 CLSM image of 2NM-1 co cultured with Hela cells(A), cell viability of Hela(B) and 4T1(C) cells incubated with different concentrations of 2NM-1 treatment with dark or light irradiation

### 3 结 论

合成了一种水溶性阳离子型3,4-二芳基修饰马来酸酐光敏剂2NM-1, 其具备良好的AIE特性、红光发射、ROS生成能力和抗菌活性. 该探针更易与负电微生物外膜有效结合, 从而实现对革兰氏阳性菌和真菌的高效选择性识别与杀灭, 且具备良好的生物相容性. 本研究不仅拓展了离子型马来酸酐衍生物的结构类型, 也为其在光动力抗菌治疗中的应用提供了新思路.

支持信息见 <http://www.cjcu.jlu.edu.cn/CN/10.7503/cjcu20250413>.

### 参 考 文 献

- [ 1 ] Makabenta J. M. V., Nabawy A., Li C. H., Schmidt-Malan S., Patel R., Rotello V. M., *Nat. Rev. Microbiol.*, **2021**, *19*, 23—36
- [ 2 ] Cheng L., Zhuang Z., Yin M., Lu Y., Liu S., Zhan M., Zhao L., He Z., Meng F., Tian S., Luo L., *Nat. Commun.*, **2024**, *15*, 9786
- [ 3 ] Hao Y. L., Li J., Wang Z. H., Ge J. C., *Chem. J. Chinese Universities*, **2025**, *46*(6), 20240409(郝永梁, 李建, 王泽华, 葛介超. 高等学校化学学报, **2025**, *46*(6), 20240409)
- [ 4 ] Rao Y., Wang Y., Zhang H., Wang Y., He Q., Yuan X., Guo J., Chen H., *Adv. Mater.*, **2024**, *36*, 2406910
- [ 5 ] He X., Xu Z., Wu H., Sathishkumar G., Zhang K., Rao X., Kharaziha M., Li N., Kang E., Xu L., *Adv. Funct. Mater.*, **2024**, *34*, 2404708
- [ 6 ] He C., Feng P., Hao M., Tang Y., Wu X., Cui W., Ma J., Ke C., *Adv. Funct. Mater.*, **2024**, *34*, 2402588
- [ 7 ] Chen S., Huang B., Tian J., Zhang W., *Adv. Healthcare Mater.*, **2024**, *13*, 2401211

- [ 8 ] Zhang Y., Wang W., Yang X., An X., Liu X., Zhao W., Zhu L., Wang T., Wang Y., Chen Y., Feng J., Shao J., Zhou X., Tang B. Z., Ge S., Li J., *Aggregate*, **2025**, *6*, e733
- [ 9 ] Ding Q., Ding L., Xiang C., Li C., Kim E., Yoon C., Wang H., Gu M., Zhang P., Wang L., Tang B. Z., Kim J. S., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2025**, *64*, e202506505
- [ 10 ] Fan D., Li M., Shen Z., Li Y., Guo J., Wang D., Han T., Tang B. Z., *Aggregate*, **2025**, *6*, e70087
- [ 11 ] Lee M. M. S., Yu E. Y., Chau J. H. C., Lam J. W. Y., Kwok R. T. K., Tang B. Z., *Adv. Mater.*, **2025**, *37*, 2407707
- [ 12 ] Chen X., Han H., Tang Z., Jin Q., Ji J., *Adv. Healthcare Mater.*, **2021**, *10*, 2100736
- [ 13 ] Bai H., He W., Chau J. H. C., Zheng Z., Kwok R. T. K., Lam J. W. Y., Tang B. Z., *Biomaterials*, **2021**, *268*, 120598
- [ 14 ] Cai X., Liu B., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2020**, *59*, 9868—9886
- [ 15 ] Li Y., Zhang R., Wan Q., Hu R., Ma Y., Wang Z., Hou J., Zhang W., Tang B. Z., *Adv. Sci.*, **2021**, *8*, 2102561
- [ 16 ] Gao Q., Ma H., Chen X., Tian M., Yang Y., Wei Y., *Coord. Chem. Rev.*, **2026**, *550*, 217409
- [ 17 ] Lv Y., Zhao M., Lin Q., Xu Z., Bai Q., Ding D., Mao D., Wang K., *Aggregate*, **2025**, *6*, e70214
- [ 18 ] Zhou C., Jiang M., Du J., Bai H., Shan G., Kwok R. T. K., Chau J. H. C., Zhang J., Lam J. W. Y., Huang P., Tang B. Z., *Chem. Sci.*, **2020**, *11*, 4730—4740
- [ 19 ] Wang W., Wu F., Zhang Q., Zhou N., Zhang M., Zheng T., Li, Y., Tang B. Z., *ACS Nano*, **2022**, *16*, 7961—7970
- [ 20 ] Li Z. H., Li D., Li Y., Li R., Kong H., Qu Y., Wu Y., Liu J., Qin S., Zhang E., Tu Y. Q., *Chem. Eng. J.*, **2025**, *519*, 165603
- [ 21 ] Hanheiser N., Jiang Y., Zoister C., Dimde M., Achazi K., Nie C., Li Y., Haag R., Singh A. K., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2025**, *64*, e202425069
- [ 22 ] Peng H., Tang Q., Tang S., Gong J., Zhao Q., *J. Membr. Sci.*, **2019**, *592*, 117386
- [ 23 ] Kalelkar P. P., Riddick M., García A. J., *Nat. Rev. Mater.*, **2022**, *7*, 39—54
- [ 24 ] Shi J., Wang M., Sun Z., Liu Y., Guo J., Mao H., Yan F., *Acta Biomater.*, **2019**, *97*, 247—259
- [ 25 ] Zhang Y., Liu D., Chen W., Tao Y., Li W., Qi J., *Adv. Mater.*, **2024**, *36*, 2409661
- [ 26 ] Li Y., He D., Zheng Q., Tang R., Wan Q., Tang B. Z., Wang Z., *Adv. Healthcare Mater.*, **2024**, *13*, 2304392
- [ 27 ] Liu L., Xiao C., Li Y., Wan J., Tang B. Z., Wang, Z., *Chem. Commun.*, **2025**, *61*, 18380—18383
- [ 28 ] Zhu C., Li Y., Deng Q., Guo R., Huang Y., Guo W., Chen X., Tang B. Z., Wang Z., Chen L., Sun Z., *Interdiscipl. Med.*, **2026**, e70095
- [ 29 ] Li Z., Xu L., Li J. Y., Lei L., Liang P. Z., Wu Q., Yang F., Ren T. B., Yin X., Yuan L., Zhang X. B., *J. Am. Chem. Soc.*, **2023**, *145*, 26736—26746

(Ed.: Y, K)